硬核油对瘤胃体外发酵及脂肪酸组成的影响

孙玲玲[1] 马 露[1] 卜登攀[1,2,3*] 许建初[4] 刘士杰[5] 何美莹[6]

（1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所，动物营养学国家重点实验室，北京 100193；2. 中国农业科学院与世界农用林业中心，农用林业与可持续畜牧业联合实验室，北京 100193；3. 湖南畜产品质量安全协同创新中心，长沙 410128；4. 中国科学院昆明植物研究所，昆明 650201；5. 中国饲料工业协会，北京 100125；6. 云南省热带作物科学研究所，景洪 666100）

摘 要：本研究利用体外产气法，探究饲粮中分别添加 1%、2%、3%及 4%（干物质基础）的硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 产气参数、发酵参数及脂肪酸组成的影响，旨在确定硬核油在瘤胃发酵中的最适添加水平。结果表明：1）饲粮中添加硬核油对 24 h 产气量、理论最大产气量及产气速率无显著影响（P>0.05）。2）氨氮（P=0.044）、总挥发性脂肪酸（P<0.001）、乙酸（P<0.001）、丙酸（P=0.047）及丁酸浓度（P=0.017）随硬核油添加水平的增加呈二次曲线升高，且总挥发性脂肪酸及乙酸浓度在 1%、2%及 3%组显著高于对照组及 4%组（P<0.05）；pH、微生物蛋白浓度、干物质降解率、中性洗涤纤维降解率及酸性洗涤纤维降解率（ADFD）未受硬核油添加的影响（P>0.05）。3）饱和脂肪酸的含量随硬核油添加水平的增加呈线性（P=0.008）及二次（P=0.028）降低，其中 C18:0 的含量也呈线性降低（P=0.030）；不饱和脂肪酸的含量随硬核油添加水平的增加呈线性（P=0.008）及二次（P=0.028）升高，其中 *t*9-C18:1 含量呈线性（P=0.002）、*t*11-C18:1 含量呈二次（P<0.001）、*c*9-C18:1 含量呈线性（P=0.028）和二次（P=0.005）升高，且 *t*9-C18:1 及 *c*9-C18:1 含量均在 3%添加水平下出现极大值。在本试验条件下，1%、2%及 3%添加水平的硬核油可提高瘤胃体外发酵不饱和脂肪酸含量，同时增加挥发性脂肪酸的浓度，3%添加水平效果最佳。

关键词：硬核油；产气参数；发酵参数；脂肪酸组成

中图分类号：S816.7

瘤胃是一个天然的厌氧发酵罐，在其发酵过程中伴随着能量的损失[1]，为提高饲料的利用效率及反刍动物生产性能，一些研究致力于开发调控剂来调控反刍动物的瘤胃发酵过程。

收稿日期：2016-09-01

基金项目：“十二五”科技支撑（2012BAD12B02-5）；农产品质量安全监管（饲料）项目“反刍动物饲料安全评价”；中国农业科学院科技创新工程（ASTIP-IAS07）

作者简介：孙玲玲（1993—），女，黑龙江哈尔滨人，硕士研究生，研究方向为反刍动物营养与饲料科学。E-mail： sunlingling114289@163.com

*通信作者：卜登攀，研究员，博士生导师，E-mail： burdenpan@126.com

植物油含有调控瘤胃发酵的活性成分且天然无毒副作用，近年来已被广泛应用在调控瘤胃发酵的过程中。植物油种类繁多且添加水平不同，其调控瘤胃发酵的作用效果亦不同，因此确定不同种类植物油调控瘤胃发酵的最适添加水平对其在反刍动物生产中的应用具有重要意义。

关于植物油对瘤胃发酵调控效果的研究报道主要集中在产气、瘤胃发酵参数及瘤胃液脂肪酸组成等几方面。郑会超等[2]利用体外产气法研究表明，在饲粮干物质（DM）基础上添加 2%和 4%的棉籽油、豆油、菜籽油、玉米油及葵花油，显著降低了瘤胃体外发酵过程中的产气量；Nanon 等[3]利用批次培养法研究发现，向精粗比为 1:1 的饲粮中添加桂皮油、丁香油、大蒜油、生姜油及香茅油（200 mg,DM 基础）提高了总挥发性脂肪酸（TVFA）浓度，对乙酸/丙酸没有显著影响；史浩亭等[4]利用人工瘤胃技术探究 1%、2%、3%及 4%（DM 基础）添加水平的苏子油对瘤胃体外发酵参数等的影响，结果表明，添加苏子油对 pH 和氨氮（NH_3-N）浓度没有显著影响，但显著降低了饲粮干物质降解率（DMD）、中性洗涤纤维降解率（NDFD）及酸性洗涤纤维降解率（ADFD）；王喜乐[5]、梁贤威[6]及 Zhu 等[7]研究发现，向饲粮中分别添加葵花籽油（7 mL/d）、茶油（4%，DM 基础）及大蒜油（0.8 g/d）均提高了瘤胃液中 C18:1 及 C18:2 等不饱和脂肪酸的含量。

硬核（*Scleropyrum wallichianum*）为檀香科（Santalaceae）硬核属（*Scleropyrum*）的一种带刺小乔木，是云南西双版纳地区的本土野生植物，其种仁含油率 67%左右[8]，包括 C16:0、C12:0、C10:0、C20:0、C18:1、C18:2 等 11 种脂肪酸及植物中非常见的炔酸成分，有研究证明其含有的炔酸成分具有抗分枝杆菌和抗疟原虫的作用[9]。硬核的生长适应力强，在西双版纳地区分布较广，资源量大，硬核油的生产成本相对低廉，具有良好的开发价值和应用前景。本研究利用体外产气法，探究不同添加水平的硬核油对瘤胃产气参数、发酵参数及脂肪酸组成的影响，初步确定硬核油在饲粮中的最适添加水平，为硬核油在反刍动物生产中的实际应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 硬核油及饲粮样品

试验所用硬核油由云南省热带作物科学研究所提供，由硬核种仁经冷链压榨工艺制得，

呈金黄色，澄清透明，纯度为99.8%。利用有机溶剂提取粗脂肪后定量测定硬核油的脂肪酸组成比例，结果见下表1。体外发酵所用饲粮与供体动物日常饲喂饲粮完全一致，饲粮风干后粉碎过2 mm筛作为发酵底物待用。饲粮组成及营养水平见表2。

表 1　硬核油主要脂肪酸组成比例

Table 1　Main fatty acid composition percentages of *Scleropyrum wallichianum* oil　%

项目 Item	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
比例 Percentage	2.50	1.11	26.15	53.42	4.21

表 2　饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 2　Composition and nutrient levels of the diet　(DM basis)　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	8.19
苜蓿 Alfalfa	23.98
玉米青贮 Corn silage	26.02
豆粕 Soybean meal	11.38
菜籽粕 Rapeseed meal	4.22
膨化大豆 Extruded soybean	2.08
蒸汽压片玉米 Steam-flaked corn	21.99
食盐 NaCl	0.38
石粉 Limestone	1.19
预混剂 Premix[1)]	0.57
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]	
干物质 DM	96.97
粗蛋白质 CP	15.64
粗脂肪 EE	2.24
粗灰分 Ash	6.79
中性洗涤纤维 NDF	43.34
酸性洗涤纤维 ADF	23.28
泌乳净能 NE_L/(MJ/kg)	3.43

[1)]每千克预混料含 One kilogram of premix contained the following：VA 250 000 IU，VD 65 000 IU，VE 2 100 IU，Fe 400 mg,，Cu 540mg，Zn 2100 mg，Mn 560 mg，Se 15 mg，I 35mg，Co 68 mg。

[2)] 泌乳净能为计算值，由CPM-Dairy 3.8.0.1（美国康奈尔大学、宾夕法尼亚大学、迈纳农业研究所共同研发）计算得出，其他为实测值。NE_L was a calculated value, and was calculated by CPM-Dairy 3.8.0.1 researched and developed by Cornell University， University of Pennsylvania， William H. Miner Agricultural Research Institute, while the others were measured values.

1.1.2　瘤胃液的采集及缓冲液的配制

试验所用缓冲液按照 Menke 等[10]的方法配制而成，配制后持续通入 CO_2 并于 39 ℃水浴中保存备用。

在中国农业科学院北京畜牧兽医研究所昌平基地选取 3 头体重（550±50） kg、泌乳日龄（136±37） d、产奶量（25.3±2.79） kg 且装有永久瘘管的 3 胎健康荷斯坦奶牛。试验当天于晨饲前 1 h 通过瘤胃瘘管采集瘤胃液并装于事先预热（39 ℃）且充满 CO_2 的保温瓶，迅速带回实验室，经 4 层医用纱布过滤后（过滤同时持续通入 CO_2）马上用于试验。

1.2　试验设计

采用完全随机试验设计，设无添加对照组和试验组，试验组硬核油的添加水平分别为底物 DM 的 1%、2%、3%及 4%，每个处理 5 个重复，发酵 24 h 后终止，收集发酵液及剩余发酵底物用以测定 pH、NH_3-N 浓度、微生物蛋白（MCP）浓度、挥发性脂肪酸（VFA）浓度、干物质降解率（DMD）、NDFD、ADFD 及脂肪酸含量。

1.3　试验方法

采用中国农业大学研制的 AGRS-III型 64 通路微生物发酵微量产气全自动记录装置与软件系统作为体外发酵装置。用天平称取约 0.5 g 发酵底物于 150 mL 厌氧发酵瓶中。由于油具有黏附性且添加水平很少，若直接称取相应质量的硬核油易导致较大的试验误差，故将要添加的比例换算成体积并用移液枪吸取，加入发酵瓶中。每个装有 50 mL 缓冲液的发酵瓶中迅速加入经过滤的瘤胃液 25 mL，并持续向瓶中通入 5 s CO_2，盖好瓶塞，将每个发酵瓶与产气装置的传感器相连接，于 39 ℃下持续发酵 24 h。

1.4　样品收集及制备

培养 24 h 后终止发酵，立即从发酵瓶中收集发酵液。用 2 个 10 mL 离心管中各收集 5 mL 发酵液后分别加入 1 mL 偏磷酸溶液，用于测定 VFA 及 NH_3-N 浓度。另取 2 个 10 mL 离心管各收集 8 mL 发酵液，150×*g* 离心 15 min，取上清，用于测定 MCP 浓度及脂肪酸含量。所有发酵液样品于-20 ℃下冷冻保存。充分混匀剩余发酵液的液相和固相，4 000×*g* 离心 10 min，弃上清，收集全部固相残渣，用于测定 DMD、NDFD 及 ADFD。

1.5　样品分析及计算

发酵结束后立即用 Seven Go^{TM} 型精密 pH 计测定发酵液的 pH；发酵液中 NH_3-N 浓度采

用靛酚比色法[11]测定，取已添加偏磷酸的发酵液 5 mL，3 000×*g* 离心 10 min，取上清液进行前处理，用氯化铵作为标准品配制标准液，使用酶标仪（Thermo Electron Varioskan Flash，美国 Thermo）在 700 nm 条件下测定标准液及发酵液的吸光度值，并根据标准曲线和吸光度值计算出 NH_3-N 浓度；MCP 浓度采用嘌呤法[12]测定，利用酵母 RNA 制作标准曲线，取 8 mL 发酵液在 20 000×*g* 条件下离心 20 min，进行前处理后利用酶标仪在 260 nm 波长下进行比色，根据吸光度值和标准曲线计算 RNA 测定值，按以下公式计算 MCP 浓度：

微生物蛋白氮（mg/mL）=RNA 测定值×RNA 含氮量（17.83%）/细菌氮中 RNA 含氮量（10%）×稀释倍数；

MCP（mg）=微生物蛋白氮（mg/mL）×6.25×发酵液体积（mL）。

VFA 浓度及脂肪酸含量利用气相色谱法测定，取发酵液 2 mL，150 000×*g* 离心 10 min，用微量注射器取上清液 1 μL，注入气相色谱仪（Agilent 6890N GC system,美国 Agilent），得到气相色谱图，采用峰面积外标法计算发酵液中 VFA 及脂肪酸含量。底物和发酵残渣中 DM、NDF 及 ADF 含量分别参照 GB6435-86、GB/T20806-2006 及 NY/T1459-2007 测定，再根据发酵前后的质量关系计算其相应的降解率。

1.6 统计分析

根据以下动态发酵模型，采用 SAS 9.3 软件 NON-LINEAR 方法计算动态发酵参数。

$$GP_t=B\times(1-e^{-ct})。$$

式中：*GP* 为 *t* 时间点 0.5 g 发酵底物的产气量（mL）；*B* 为 0.5 g 发酵底物 24 h 理论最大产气量（mL）；*c* 为产气速率（h^{-1}）；*t* 为体外发酵时间（h）。

采用 SAS 9.3 软件 MIXED 模块进行统计学检验，统计模型中包含发酵瓶的随机因素和试验处理的固定因素。对处理用多项式矩阵（polynomial contrast）检验了线性、二次区间的显著性。变量的统计结果均以最小二乘平均值形式列表，显著水平为 $P<0.05$，有显著趋势水平为 $0.05\leq P<0.10$。

2 结果与分析

2.1 硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 产气参数的影响

饲粮中添加不同水平的硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 产气参数的影响见表 3。产气量、理论最大产气量及产气速率均未受硬核油添加的影响（$P>0.05$），且不呈线性和二次变化

（P>0.05）。1%、2%及 3%组产气量及理论最大产气量有高于对照组及 4%组的趋势（0.05≤P<0.10）。

表 3 硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 产气参数的影响

Table 3 Effects of *Scleropyrum wallichianum* oil on GP parameters after 24 h rumen fermentation *in vitro*

项目 Items	添加水平 Supplemental level/%					SEM	P 值 P-value		
	0	1	2	3	4		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
产气量 GP/mL	102.89	127.51	108.83	115.95	89.82	6.310	0.058	0.696	0.936
理论最大产气量 Theoretical maximum GP/mL	127.15	158.98	139.07	150.86	117.09	7.615	0.056	0.874	0.963
产气速率 Rate of GP/h^{-1}	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.001	0.761	0.605	0.428

同行数据肩标不同字母表示差异显著（P<0.05），相同或无字母表示差异不显著（P>0.05）。下表同。

In the same row, values with different letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

2.2 硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 发酵参数的影响

饲粮中添加不同水平的硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 发酵参数的影响见表 4。发酵液的 pH 未受硬核油添加的影响（P>0.05）；NH_3-N 浓度随硬核油添加水平的增加呈二次曲线升高（P=0.044）；TVFA（P<0.001）、乙酸（P<0.001）、丙酸（P=0.047）及丁酸浓度（P=0.017）随硬核油添加水平的增加均呈二次曲线升高，各试验组 TVFA、乙酸及丙酸浓度均显著高于对照组（P<0.05），且 1%、2%及 3%组 TVFA、乙酸浓度均显著高于 4%组；MCP 浓度、DMD、NDFD 及 ADFD 均未受硬核油添加的影响（P>0.05）。

表 4 硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 发酵参数的影响

Table 4 Effects of *Scleropyrum wallichianum* oil on fermentation parameters after 24 h rumen fermentation *in vitro*

项目 Items	添加水平 Supplemental level/%					SEM	P值 P-value		
	0	1	2	3	4		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
pH	6.78	6.77	6.78	6.78	6.77	0.002	0.990	0.739	0.975
氨氮 NH_3-N/(mg/dL)	34.89	37.88	42.55	36.14	35.09	1.413	0.094	0.869	0.044
微生物蛋白 MCP/(mg/mL)	0.58	0.54	0.55	0.56	0.55	0.007	0.928	0.673	0.730
总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	86.78^{c}	125.35^{a}	125.03^{a}	123.29^{a}	113.89^{b}	7.328	<0.001	<0.001	<0.001
乙酸 Acetate/(mmol/L)	64.44^{c}	93.00^{a}	92.76^{a}	91.05^{a}	84.41^{b}	5.404	<0.001	<0.001	<0.001
丙酸 Propionate/(mmol /L)	18.53^{b}	24.28^{a}	24.21^{a}	24.47^{a}	22.22^{a}	1.129	0.004	0.014	0.047
丁酸 Butyrate/(mmol /L)	4.19	5.78	5.78	5.29	4.99	0.296	0.111	0.432	0.017
乙酸/丙酸 Acetate /propionate	3.82	3.85	3.83	3.82	3.76	0.014	0.512	0.214	0.235

干物质降解率 DMD	0.68	0.70	0.68	0.70	0.67	0.005	0.390	0.378	0.437
中性洗涤纤维降解率 NDFD	0.36	0.35	0.37	0.41	0.41	0.013	0.320	0.082	0.852
酸性洗涤纤维降解率 ADFD	0.37	0.37	0.39	0.43	0.43	0.013	0.271	0.060	0.779

2.3 硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 脂肪酸含量的影响

饲粮中添加不同水平的硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 脂肪酸含量的影响见表 5。中长链饱和脂肪酸 C12:0～C17:0 及长链饱和脂肪酸，包括 C20:0、C22:0 及 C24:0 的含量未受硬核油添加的影响（P>0.05）。饱和脂肪酸含量随硬核油添加水平的增加呈线性（P=0.008）及二次（P=0.028）降低，3%、4%组显著低于对照组及 1%、2%组（P<0.05）；其中长链饱和脂肪酸 C18:0 的含量呈线性降低（P=0.030），3%组显著低于其他各组（P<0.05）。不饱和脂肪酸含量随硬核油添加水平的增加呈线性（P=0.008）及二次（P=0.028）增加，3%组显著高于其他各组（P<0.05）；其中 *t*9-C18:1 含量呈线性（P=0.002）、*t*11-C18:1 含量呈二次（P<0.001）、*c*9-C18:1 含量呈线性（P=0.028）和二次（P=0.005）升高，且 *t*9-C18:1 及 *c*9-C18:1 含量均在 3%添加水平下出现极大值。多不饱和脂肪酸 C18:2 的含量未受硬核油添加的影响（P>0.05）。

表 5 硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 脂肪酸含量的影响

Table 5 Effects of *Scleropyrum wallichianum* oil on fatty acid contents after 24 h rumen fermentation *in vitro* %

项目 Items	添加水平 Supplemental level/%					SEM	*P* 值 *P*-value		
	0	1	2	3	4		处理 Treatment	线性 Linear	二次 Quadratic
C12:0	0.93	0.38	0.37	0.49	0.44	0.001	0.511	0.306	0.263
C13:0	0.06	0.05	0.05	0.07	0.05	0.029	0.206	0.911	0.801
C14:0	1.26	1.46	1.31	1.46	1.33	0.001	0.305	0.268	0.259
C15:0	0.73	0.76	0.69	0.89	0.71	0.001	0.211	0.635	0.525
C16:0	0.45	0.46	0.46	0.44	0.46	0.003	0.184	0.800	0.592
C17:0	0.65	0.81	0.58	0.69	0.56	0.001	0.674	0.487	0.627
C18:0	42.22^{a}	40.52^{a}	40.30^{a}	37.82^{b}	40.13^{a}	0.007	0.036	0.030	0.107
*t*9-C18:1	1.76^{c}	2.95^{bc}	3.64^{bc}	6.34^{a}	4.00^{b}	0.007	0.001	0.002	0.050
*t*11-C18:1	0.27^{b}	0.84^{a}	0.89^{a}	0.76^{a}	0.35^{b}	0.029	<0.001	0.729	<0.001
*c*9-C18:1	3.33^{c}	3.89^{bc}	4.10^{b}	5.02^{a}	3.73^{bc}	0.003	0.002	0.028	0.005
C18:2	0.74	1.22	0.87	0.89	0.90	0.001	0.417	0.989	0.535
C20:0	0.46	0.47	0.48	0.45	0.44	0.043	0.457	0.309	0.217
C22:0	0.15	0.14	0.15	0.14	0.13	0.031	0.611	0.312	0.521
C22:2	0.82	0.69	0.38	0.45	0.93	0.001	0.060	0.977	0.100
C24:0	0.13	0.12	0.15	0.15	0.12	0.043	0.606	0.915	0.269
饱和脂肪酸 SFA	92.31^{a}	90.02^{a}	90.00^{a}	89.86^{b}	86.35^{a}	0.010	0.003	0.008	0.028

不饱和脂肪酸 USFA	7.69^{b}	9.98^{b}	10.03^{b}	13.65^{a}	10.14^{b}	0.010	0.003	0.008	0.028

3 讨 论

3.1 硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 产气参数的影响

本研究中，添加不同水平的硬核油对瘤胃体外发酵 24 h 产气量、理论最大产气量及产气速率均无显著影响。当添加水平分别为 1%、2%及 3%时，24 h 产气量、理论最大产气量在数值上逐渐升高，且均高于对照组，而添加水平增加到 4%时，则出现了降低的趋势且低于对照组。产气量作为综合反映饲粮可降解程度的指标，不仅能够表现瘤胃微生物活动的总体情况，还可以反映饲粮可消化性的大小。瘤胃微生物的活性越强，饲粮可降解程度越高，产气量就越高。本研究中产气量的变化与 DMD 的变化体现了这种相关性。这种变化趋势可能与添加硬核油影响瘤胃微生物的活性有关。

3.2 硬核油对瘤胃体外发酵24 h发酵参数的影响

瘤胃液pH是反映瘤胃发酵程度及模式的重要指标[13]，受唾液分泌及VFA组成等多种因素的影响[14]，一般情况下，瘤胃液pH为6.0~7.0。本研究中，所有添加水平下的pH均在正常范围内且没有显著差异，表明本研究中的硬核油添加水平未引起发酵液pH失衡。瘤胃液NH_3-N浓度是反映瘤胃氮代谢的重要指标，主要受瘤胃微生物对饲粮粗蛋白质的降解情况及MCP合成的综合影响[15]，且其浓度的最适范围为8.5~30.0 mg/dL。本研究中，对照组和试验组的NH_3-N浓度均超过该范围，可能是由于体外培养体系不能真正模拟活体瘤胃发酵，不具备吸收和外排的功能，导致发酵产生的一部分NH_3-N直接溶于发酵液中，从而使得NH_3-N浓度高于正常值[16]。随硬核油添加水平的增加，NH_3-N浓度呈二次曲线变化，这可能是由于添加脂肪为瘤胃细菌提供了一定的能量而导致其活性增强[17]，从而提高了其对粗蛋白质等成分的降解能力。然而White[18]及Ørskov等[19]的研究指出，饲粮中添加过多的脂肪会抑制瘤胃微生物的代谢活力；且有研究表明，这种抑制作用与脂肪酸的不饱和度以及浓度呈正相关[17]。硬核油含有较高的C18:2（53.42%），可能当硬核油添加水平达到4%时，对瘤胃微生物起到了抑制作用。以上原因可能导致了随着硬核油添加水平的增加，NH_3-N浓度呈现先升高后降低的变化趋势。但在此基础上MCP的浓度却没有发生显著变化，可能是因为在原有NH_3-N浓度的基础上MCP的合成可能已达到饱和，因而MCP的浓度没有发生显著变化。

VFA是饲粮中碳水化合物在瘤胃中发酵的主要产物，是反刍动物能量的主要来源，其浓度和组成反映了瘤胃的消化代谢情况[4]。饲粮中添加植物油对瘤胃发酵产生VFA浓度的影响

比较复杂，与植物油的种类和添加水平等有关。Clinquart等[20]研究指出，当饲粮中的脂肪添加水平低于3.3%（DM基础）时，瘤胃发酵产生的VFA的浓度会增加，但当添加水平高于5.0%（DM基础）时将会降低VFA的浓度。本研究中，硬核油的添加水平低于3%时，VFA的浓度增加，当添加水平增至4%时，其浓度有降低的趋势，与上述报道的结果基本一致。有研究表明，饲粮中添加植物油会降低乙酸和丁酸的浓度而增加丙酸的浓度，使乙酸/丙酸下降。Uedal等[21]向不同精粗比的饲粮中添加3%（DM基础）的亚麻油，结果表明，乙酸和丁酸的浓度显著降低，而丙酸的浓度显著升高；Jenkins[22]研究表明，在阉羊饲粮中添加10%的豆油可使乙酸浓度降低，丙酸浓度升高。本研究中，丙酸的浓度显著升高，与上述报道一致，一般认为丙酸浓度升高是由于补充的脂肪经脂肪酶分解为长链脂肪酸和甘油，甘油进一步转化为丙酸[23]。本研究中乙酸和丁酸的变化与上述报道不一致，这可能与不同植物油含有不同含量的不饱和脂肪酸有关。

3.3　硬核油对瘤胃体外发酵24 h脂肪酸含量的影响

瘤胃是一个高度还原的环境，饲粮中的脂肪在被瘤胃微生物降解为甘油和脂肪酸的同时，其中的不饱和脂肪酸（C18:1、C18:2及C18:3）会发生生物氢化反应，且氢化过程会生成一些中间产物如C18:1及共轭亚油酸（CLA）等[24]。吴端钦等[25]利用体外产气法研究发现，向饲粮中添加底物DM 5%及10%的亚麻籽油提高了发酵液中CLA及其他不饱和脂肪酸的含量。Gunal等[24]利用批次培养法研究发现，向发酵液中添加125、250及500 mg/L的桉树油提高了不饱和脂肪酸的含量，降低了氢化产物C18:0的含量。本研究中，随硬核油添加水平的增加，所有单不饱和脂肪酸（*c*9-C18:1、*t*11-C18:1及*t*9-C18:1）的含量呈二次曲线升高，可能因为硬核油含有大量的不饱和脂肪酸，不饱和脂肪酸氢化产生*c*9-C18:1、*t*11-C18:1及*t*9-C18:1等中间产物，从而导致它们的含量增加。杨舒黎[17]在奶牛饲粮中分别添加4%豆油和胡麻油，并利用荧光定量PCR技术测定其对瘤胃微生物氢化菌的影响，结果发现添加植物油显著降低了溶纤维丁酸弧菌（*B.fibrisolven*）及瘤胃白色球菌（*R.albus*）的数量。本研究中*c*9-C18:1及*t*9-C18:1的含量在3%添加水平时出现极大值，当添加水平增至4%时其含量有所下降，可能是过高的脂肪减少了氢化菌的数量，导致不饱和脂肪酸的氢化程度降低，氢化的中间产物减少，从而*c*9-C18:1、*t*11-C18:1及*t*9-C18:1的含量相应降低。C18:0的含量随硬核油添加水平的增加呈线性降低，可能是由于饲粮中较高含量的C18:2抑制了*t*11-C18:1向C18:0的氢化过程

[26]，导致含量降低。

4 结　论

① 添加适当水平的硬核油可提高瘤胃体外发酵24 h瘤胃液中NH_3-N、TVFA、乙酸、丙酸、丁酸的浓度及不饱和脂肪酸*c*9-C18:1、*t*11-C18:1及*t*9-C18:1的含量，降低饱和脂肪酸C18:0的含量。

② 在本试验条件下，硬核油的适宜添加水平为3%。

参考文献：

[1] 赵洪波,王志博,张永根.植物提取物对瘤胃发酵调控的研究进展[J].饲料工业,2012,33(23):53–57.

[2] 郑会超,姚建红,吴跃明,等.体外产气法评价添加植物油对瘤胃发酵的影响[J].中国奶牛,2004(6):21–23.

[3] NANON A,SUKSOMBAT W,YANG W Z.Use of essential oils for manipulation of rumen microbial fermentation using batch culture[J].Thai Journal of Veterinary Medicine,2015,45(2):167–180.

[4] 史浩亭,王加启,卜登攀,等.苏子油对瘤胃体外发酵模式、脂肪酸组成及甲烷生成的影响[J].甘肃农业大学学报,2015,50(3):23–28.

[5] 王喜乐,沈向真,杨俊花,等.添喂葵花籽油对山羊瘤胃消化代谢与瘤胃液脂肪酸组成的影响[J].畜牧兽医学报,2007,38(4):356–361.

[6] 梁贤威,张双双,韦升菊,等.葵花籽油和茶油对奶水牛瘤胃发酵参数及瘤胃液脂肪酸组成的影响[J].畜牧与兽医,2015,47(5):50–54.

[7] ZHU Z,MAO S Y,ZHU W Y.Effects of ruminal infusion of garlic oil on fermentation dynamics,fatty acid profile and abundance of bacteria involved in biohydrogenation in rumen of goats[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2012,25(7):962–970.

[8] 何美莹,朱义鑫.西双版纳本土木本油料植物硬核研究初报[J].热带农业科技,2014,37(1):36–39.

[9] SUKSAMRARN A,BUAPROM M,UDTIP S,et al.Antimycobacterial and antiplasmodial unsaturated carboxylic acid from the twigs of scleropyrum

wallichianum[J].ChemInform,2006,37(12):1327–1329.

[10] MENKE K H,STEINGASS H.Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid[J].Animal Research Development,1988,28(1):7–55.

[11] BRODERICK G A,KANG J H.Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* Media[J].Journal of Dairy Science,1980,63(1):64–75.

[12] 刘晶.饲料果胶对瘤胃微生物菌群结构和微生物蛋白合成影响的研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2014:81–82.

[13] REDDY K J,REDDY M R.Effect of feeding complete feeds on various nitrogen fractions and total VFA concentrations in the rumen fluid of sheep[J].Indian Journal of Animal Sciences,1985,55(9):819–823.

[14] NOCEK J E.Feeding sequence and strategy effects on ruminal environment and production performance in first lactation cows[J].Journal of Dairy Science,1992,75(11):3100–3108.

[15] BENCHAAR C,CALSAMIGLIA S,CHAVES A V,et al.A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production[J].Animal Feed Science and Technology,2008,145(1/2/3/4):209–228.

[16] 李袁飞,郝建祥,马艳艳,等.体外瘤胃发酵法评定不同类型饲料的营养价值[J].动物营养学报,2013,25(10):2403–2413.

[17] 杨舒黎.日粮添加豆油和胡麻油对奶牛瘤胃细菌及发酵参数的影响[D].博士学位论文.北京:中国农业科学院,2007:3–10.

[18] WHITE T W,GRAINGER R B,BAKER F H,et al.Effect of supplemental fat on digestion and the ruminal calcium requirement of sheep[J].Journal of Animal Science,1958,17(3):797–803.

[19] ØRSKOV E R,HINE R S,GRUBB D A.The effect of urea on digestion and voluntary intake by sheep of diets supplemented with fat[J].Animal Production,1978,27(3):241–245.

[20] CLINQUART A,VAN EENAEME C,DUFRASNE I,et al.Soya oil in the diet of

growing-fattening bulls.Ⅱ.Effects on metabolism in the rumen,apparent digestibility,plasma hormones and metabolites[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,1995,74(1/2/3/4/5):15–23.

[21] UEDA K,FERLAY A,CHABROT J,et al.Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios[J].Journal of Dairy Science,2003,86(12):3999–4007.

[22] JENKINS T C.Butylsoyamide protects soybean oil from ruminal biohydrogenation:effects of butylsoyamide on plasma fatty acids and nutrient digestion in sheep[J].Journal of Animal Science,1995,73(3):818–823.

[23] 刘大森,曹秀青,刘立成.不同亚油酸来源的日粮以绵羊瘤胃发酵和营养物质表观消化率的影响[J].饲料工业,2010(增刊2):37–41.

[24] GUNAL M,ISHLAK A,ABUGHAZALEH A A,et al.Essential oils effect on rumen fermentation and biohydrogenation under *in vitro* conditions[J].Czech Journal of Animal Science,2014,59(10):450–459.

[25] 吴端钦,贺志雄,汤少勋,等.体外添加不同水平的亚麻籽油对气体产量、瘤胃发酵及脂肪酸组分的影响[J].天然产物研究与开发,2014,26(2):273–277.

[26] LOOR J J,UEDA K,FERLAY A,et al.Biohydrogenation,duodenal flow,and intestinal digestibility of *Trans* fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2004,87(8):2472–2485.

Effects of *Scleropyrum wallichianum* Oil on *in Vitro* Rumen Fermentation Characteristics and Fatty Acid Composition

SUN Lingling[1] MA Lu[1] BU Dengpan[1,2,3*] XU Jianchu[4] LIU Shijie[5] HE Meiying[6]

(1. *State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*; 2. *CAAS-ICRAF Joint Lab on Agroforestry and Sustainable Animal Husbandry, Beijing* 100193, *China*; 3. *Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha* 410128, *China*; 4. *Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of*

Sciences, *Kunming* 650201, *China*; 5. *China Feed Industry Association*, *Beijing* 100125, *China*; 6. *Yunnan Institute of Tropical Crops*, *Jinghong* 666100, *China*)

Abstract: In order to find the optimal supplemental level of *Scleropyrum wallichianum* oil, the effects of adding 1%, 2%, 3% and 4% (dry matter basis) of *Scleropyrum wallichianum* oil in diet on 24 h rumen fermentation parameters, gas production parameters and composition of fatty acids were investigated using *in vitro* gas production method. The aim is to determine suitable addition level. The results showed as follows: 1) there were no significant effects of adding *Scleropyrum wallichianum* oil in diet on 24 h gas production, theoretical maximum gas production and the rate of gas production ($P>0.05$). 2) The concentrations of ammonia nitrogen ($P=0.044$)， total volatile fatty acid ($P<0.001$), acetate ($P<0.001$), propionate ($P=0.047$) and butyrate ($P=0.017$) quadratically increased as the level of *Scleropyrum wallichianum* oil increased, besides, the concentrations of total volatile fatty acid and acetate of 1%, 2% and 3% groups were significantly higher than those in control group and 4% group （$P<0.05$）; there were no significant effects of adding *Scleropyrum wallichianum* oil on pH, microbe protein concentration, dry matter degradation rate, neutral detergent fiber degradation rate and acid detergent fiber degradation rate ($P>0.05$). 3) The content of saturated fatty acid was linearly ($P=0.008$) and quadratically decreased（$P=0.028$） as the level of *Scleropyrum wallichianum* oil increased, and C18:0 content was linearly decreased （$P=0.030$）, too; the content of unsaturated fatty acid was linearly ($P=0.008$) and quadratically increased （$P=0.028$） as the level of *Scleropyrum wallichianum* oil increased, *t*9-C18:1 content was linearly （$P=0.002$）, *t*11-C18:1 content was quadratically ($P<0.001$) and *c*9-C18:1 was linearly ($P=0.028$) and quadratically increased （$P=0.005$）, and *t*9-C18:1and *c*9-C18:1 reached maximum values under the adding level of 3%. Under the conditions of the present study, the levels of 1%, 2% and 3% *Scleropyrum wallichianum* oil can increase the contents of unsaturated fatty acids and the concentrations of volatile fatty acids, and the level of 3% has the best effect.

Key words: *Scleropyrum wallichianum* oil; gas production parameters; fermentation parameters; composition of fatty acids